# UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE ZUSAMMENSETZUNG DER HEINZKÖRPERCHEN BEIM PHENYLHYDRAZINANÄMISCHEN TIER

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER

MEDIZINISCHEN DOKTORWÜRDE

VORGELEGT DER

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER ALBERT-LUDWIGS-UNIVERSITÄT

ZU FREIBURG IM BREISGAU

VON

**FERDINAND HEUER**

AUS MAINZ

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

1914

DRUCK VON JULIUS KLINKHARDT IN LEIPZIG

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität Freiburg im Breisgau.

Dekan: Geh. Hofr. Prof. Dr. Hoche.

Referent: Prof. Dr. Ziegler.

Sonderdruck aus „FOLIA HAEMATOLOGICA", Archiv, Band XVIII, Heft 2,
Verlag von Dr. Werner Klinkhardt in Leipzig.

# Untersuchungen über die Zusammensetzung der Heinzkörperchen beim phenylhydrazinanämischen Tier.

Nachdem Morawitz und Pratt gezeigt hatten, daß die Resistenz der Blutkörperchen von Kaninchen, die mit Phenylhydrazin behandelt waren, erhöht sei, fanden Itami und Pratt, daß gleichzeitig mit der Resistenzsteigerung eine enorme Vermehrung des Stromasedimentes vorhanden sei, so daß selbst mit destilliertem Wasser keine vollständige Auflösung der Erythrozyten zu erzielen war. Die Resistenzerhöhung der phenylhydrazinanämischen Erythrozyten gegen hypotonische Kochsalzlösungen sowie die Stromavermehrung wurden allerseits anerkannt, aber schon über die Resistenz gegenüber anderen hämolytischen Agentien waren die Meinungen geteilt. So behauptet Rosenthal, daß die Resistenz gegen Saponin große Differenzen zeige von einer deutlichen Resistenzvermehrung bis herab zum normalen Verhalten, während die anderen Untersucher eine geringe Resistenzsteigerung gegen Saponin feststellen konnten. Rosenthal hatte außerdem gefunden, daß sich die Stromavermehrung auch in vitro durch Zusatz von Phenylhydrazin zu normalem Blute erzeugen lasse. Dora Friedstein fand dann unter der Leitung Pappenheims, daß bei der Vergiftung mit Phenylhydrazin in vivo gewisse zirkumskripte Teile der Erythrozyten hervorgehoben werden, welche zuerst von Heinz beschrieben sind und die vital basisch färbbar sind. Sie fand, daß diese Körperchen sich nur intra corpus, nicht in vitro bilden, wenn man Phenylhydrazin mit normalem Blut mischt. Friedstein und Pappenheim erklärten die basophilen vital basisch färbbaren Heinzschen Körper des Vitalpräparates für identisch mit den Ehrlichschen peroxyphilen sogenannten hämoglobinämischen Binnen-

körpern des fixierten Präparates, die fraglos hämoglobinhaltig seien. Weiter erklärten sie die vital färbbaren Heinz-Ehrlichschen Binnenkörper und die aus ihnen resultierenden Abschnürungs- bzw. Losstoßungsmikroschizozyten als wahrscheinlich aus einer Legierung und innigen Mischung von Promethämoglobin und (cholesterinhaltigem?) Stromalipoid bestehend und nahmen an, daß durch die Vergiftung in der lipoiden Hülle der Erythrozyten eine Dissoziation am Albuminlipoid entsteht, wobei albuminöses Hämoglobin und Lipoid sich innig gegenseitig durchtränken. Pappenheim stellte dann zusammen mit Suzuki weiter fest, daß bei den direkt in vitro vergifteten Erythrozyten die Stromamembran angegerbt, wirklich pachydermisch ist. Nach ihnen zeigen diese Erythrozyten eine wirklich erhöhte osmotische und Saponinresistenz; die Hämoglobinauslaugung tritt später auf, sind aber schließlich bei höchsten Dosen von Saponin doch total hämolysierbar mit Absatz eines ausgelaugten Bodensatzes von ungeplatzten Schatten. Dagegen seien die in vivo vergifteten Erythrozyten nicht eigentlich pachydermisch und hätten eigentlich auch keine wesentlich erhöhte Resistenz gegenüber der Norm, vielmehr trete Auslaugung und Hämolyse hier schon ziemlich bald ein. Dagegen hätten sie eine partielle Hämoglobinresistenz lokalisiert im Heinzkörperchen. Dieser anscheinend hämoglobinhaltige Bestandteil behalte scheinbar sein Hämoglobin äußerst zähe (bzw. bleibe hyperoxyphil im fixierten Präparat) und sei selbst in keiner Weise auflösbar, nachdem der periphere Teil der Blutkörperchen längst hämolysiert sei. Während also der Bodensatz der in vitro vergifteten Erythrozyten aus pachydermisch ungelösten, aber ausgelaugten Stromata bestehe, bestehe der Bodensatz der in vivo vergifteten Erythrozyten nach ihrer Lösung aus hämoglobinhaltigen (?) resistenten Heinzkörperchen. Die Körperchen enthielten zwar kein reines Methämoglobin, aber doch scheinbar ein chemisch modifiziertes Hämoglobin. Ihre Oxyphilie im fixierten Präparat sei jedenfalls auf koaguliertes Eiweiß (Hämoglobin? Nukleoglobin? Histon?) zu beziehen, während ihre basische Vitalfärbbarkeit auf Lipoid zu beziehen sei. Sie könnten aufgefaßt werden als durch das Gift nekrotisierte, also biologisch wertlose Teile der Blutkörperchen (Heinz) oder aber als hämoglobinhaltige Mikrozytenabsprengungen erhöhter Resistenz, also eine Form reaktiver Kompensationserscheinung, durch welche das Blut seine respiratorische Oberfläche gegenüber der Giftwirkung zu erhalten trachtet (Ehrlich). Nach Krönig sollen sie frei von funktionell wertlosem Hämoglobin sein. Erstere Auffassung scheine aber wahrscheinlicher.

Auf Veranlassung von Herrn Professor Morawitz machte ich mich zunächst daran, die Resultate von Suzuki, besonders bezüglich der

Resistenz nachzuprüfen. Ich ging genau nach dem von Suzuki angegebenen Verfahren vor. Das Blut wurde der Ohrvene des Kaninchens mit Hilfe der von Zahn angegebenen Saugglocke entnommen und in einem Gefäß, das Hirudin enthielt, aufgefangen. Darauf wurden an sechs auf verschiedene Weise behandelten Blutpräparaten Resistenzversuche vorgenommen. Nachstehende Tabelle entspricht der Tabelle 3 bei Suzuki. Ich habe in dieser Tabelle eine zweite Versuchsreihe angefügt, da ich zeigen wollte, daß die Resistenzwerte verschieden sind, je nachdem man Blut und Lösungsmittel zu gleichen Teilen nimmt, oder 1 Tropfen Blut auf 2 ccm Lösungsmittel. Die Zahlen in Klammern unter meinen Resultaten geben die von Suzuki gefundenen Werte.

| Hirudinblut des normalen Kaninchens | 0,5 Blut 0,5 Saponin | | 1 Tropfen Blut 2 ccm Saponin | |
|---|---|---|---|---|
| | gelöst | ungelöst | gelöst | ungelöst |
| 1. Nicht zentrifugiert, nicht gewaschen und nicht verdünnt . . . . . | 0,2 (0,2) | 0,06 (0,05) | 0,01 | 0,001 |
| 2. Nicht zentrifugiert, nicht gewaschen, auf 5 % verdünnt . . . . . | 0,01 (0,006) | 0,005 (0,003) | 0,005 | 0,0005 |
| 3. Zentrifugiert, nicht gewaschen, unverdünnt . . . . . | 0,07 (0,05) | 0,02 (0,01) | 0,005 | 0,001 |
| 4. Zentrifugiert, nicht gewaschen, auf 5 % verdünnt . . . . . | 0,005 (0,004) | 0,003 (0,001) | 0,005 | 0,0005 |
| 5. Zentrifugiert, gewaschen, unverdünnt . | 0,005 (0,04) | 0,002 (0,001) | 0,005 | 0,0001 |
| 6. Zentrifugiert, gewaschen, auf 5 % verdünnt . . . . . | 0,002 (0,004) | 0,0005 (0,001) | 0,001 | 0,00005 |

Man sieht, daß meine Resultate mit denen von Suzuki ziemlich übereinstimmen, daß also bei zentrifugiertem, gewaschenem, serumfreiem Blut die Hämolyse schon bei einer schwächeren Konzentration der Kochsalzlösung auftrat, als bei dem nicht zentrifugierten, ungewaschenen, serumhaltigen Blute. Daraus geht hervor, daß das Serum gegen die Hämolyse eine Schutzwirkung ausübt.

Die Resistenzversuche an in vivo und in vitro vergifteten Erythrozyten wurden weniger systematisch ausgeführt, als die an normalen

Blutkörperchen, vor allem aber wurde nicht immer die gleiche Methode angewandt. Darauf kommt jedoch sehr viel an, denn wie mir scheint, ist es nicht so wichtig, welche Methode man zur Resistenzbestimmung benutzt, dagegen sehr wichtig, daß man immer dieselbe Methode anwendet. Dazu kommt, daß die maximale Resistenz bei phenylhydrazinanämischem Blut sehr schwer zu bestimmen ist. Bei normalen Erythrozyten liegt die maximale Resistenz da, wo kein Bodensatz vorhanden ist. Dieses Merkmal ist bei dem phenylhydrazinanämischen Blut nicht anwendbar, da eben infolge der Stromasedimentvermehrung selbst bei destilliertem Wasser noch Bodensatz vorhanden ist. Um zu entscheiden, ob alles Hämoglobin ausgelaugt worden ist, liegt es nahe, die mikroskopische Untersuchung heranzuziehen und festzustellen, ob noch hämoglobinhaltige Erythrozyten vorhanden sind. Diese Schwierigkeit haben schon Itami und Pratt herausgefunden und haben deshalb die mikroskopische Untersuchung zu Hilfe gezogen. Aber auch die mikroskopische Untersuchung gibt keinen sicheren Anhalt für die Bestimmung der maximalen Resistenz. Wenn man nämlich den Grad der Hämolyse makroskopisch nach dem Grad der Färbung der überstehenden Flüssigkeit bestimmt, und die maximale Resistenz dahin verlegt, wo zuerst die stärkste Rotfärbung auftritt, so findet man regelmäßig, daß der Übergang von der minimalen zur maximalen Resistenz bei phenylhydrazinanämischen Erythrozyten viel rascher erfolgt, als bei normalen. Untersucht man dann den Bodensatz des Gläschens, in dem man makroskopisch die maximale Resistenz bestimmt hat, mit dem Mikroskop, so findet man noch ziemlich viel hämoglobinhaltige Erythrozyten und man muß schon den Bodensatz eines Gläschens mit bedeutend niedrigerer Kochsalzkonzentration nehmen, um gar keine hämoglobinhaltigen Erythrozyten mehr zu finden. Mir scheint nun, daß die phenylhydrazinanämischen Erythrozyten nicht resistenter sind als normale, sondern im Gegenteil weniger resistent. Es fragt sich nur, was man unter Resistenz versteht. Wenn man darunter die restlose Auflösung der Erythrozyten versteht, dann ist allerdings selbst mit destilliertem Wasser noch keine völlige Hämolyse erreicht. Versteht man aber darunter nur den Austritt von Hämoglobin, so ist die Resistenz sicher vermindert. Eine Verminderung der Resistenz in diesem Sinne beweist schon der Hämoglobinaustritt aus den phenylhydrazinanämischen Erythrozyten in das isotonische Serum. Meiner Meinung nach ist bei Resistenzbestimmungen mit anämischen Erythrozyten die Maximalresistenz erreicht, wenn sämtliche durch das Phenylhydrazin veränderten Erythrozyten ihr Hämoglobin abgegeben haben. Dieser Punkt läßt sich makroskopisch aus der Färbung der überstehenden Flüssigkeit bestimmen.

Itami und Pratt sprechen von einer Resistenzvermehrung, weil sie glauben, die Stromavermehrung als einen Abwehrvorgang des Organismus auffassen zu müssen, der wieder rückgängig gemacht werden könne. Aber Heinz hat meiner Meinung nach unzweifelhaft bewiesen, daß die von ihm zuerst beobachteten Körperchen ein nekrobiotischer Prozeß sind, und daß die veränderten Erythrozyten alle aus der Blutbahn entfernt werden. Infolge dieser Unsicherheit in der Bestimmung der maximalen Resistenz erhielt ich so widersprechende Resultate, daß ich die Versuche nicht weiter fortsetzte, zumal dadurch die Frage nach dem Wesen der Heinzkörperchen gar nicht gefördert wurde. Ich versuchte daher zunächst, ob es nicht möglich sei, die Heinzkörperchen in vitro darzustellen. Zu diesem Zwecke versetzte ich gleiche Mengen Blut mit steigenden Mengen Phenylhydrazin, die aber doch ungefähr der Menge entsprechen, die nötig ist, um die Tiere in vivo zu vergiften. Die Proben wurden teils im Eisschrank, teils im Brutschrank gehalten für 24 bis 48 Stunden. Aber ohne Erfolg. Im Nilblaupräparat der unversehrten und der hämolysierten Blutkörperchen waren nur unveränderte Erythrozyten bzw. runde Schatten zu sehen, während bei dem in vivo vergifteten Blut die Heinzkörperchen deutlich zu sehen sind.

Die Überlegung, daß die Heinzkörperchen aus Nukleineiweiß bestehen könnten, führte weiter zu dem Versuch, die kernhaltigen roten Blutkörperchen der Gans in vitro zu vergiften. Schon Heinz hatte Hühner mit Phenylhydrazin behandelt und folgendes gefunden:

1. Das Oxyhämoglobin wird in Methämoglobin umgewandelt.
2. Der Kern zeigt deutliche Schrumpfungserscheinungen, ist verkleinert, die Konturen sind unregelmäßig.
3. Die Konturen der Blutscheiben ändern sich (Einkerbungen, Knickungen).
4. Das Hämoglobin zieht sich zusammen, fächerförmig vom Kern ausstrahlend oder in Klumpen um den Kern.
5. Heinzkörperchen bilden sich nicht.

Von diesen Veränderungen konnte ich nur die unter 4. angeführten feststellen, und zwar nicht nur bei Vergiftungen in vivo, sondern auch bei den in vitro vergifteten Erythrozyten. Das beweist, daß beim Vogelblut die Wirkung des Phenylhydrazins in vivo und in vitro ähnlich ist. Die Resistenzbestimmungen an normalen, in vivo und in vitro vergifteten Erythrozyten der Gans mit hypotonischen Kochsalzlösungen ergaben in allen drei Fällen dasselbe Resultat. Die Maximalresistenz, die bei 0,32 bis 0,30 % NaCl lag, wurde in den Fällen mit vergifteten Erythrozyten makroskopisch bestimmt, da die mikroskopische Untersuchung

des Bodensatzes der in vitro vergifteten Erythrozyten keine sicheren Anhaltspunkte für die vollendete Hämolyse ergab. Selbst bei 0,2 % NaCl waren noch vereinzelte hämoglobinhaltige Erythrozyten vorhanden. Einen Nebenbefund möchte ich hier erwähnen. Im Nilblauvitalpräparat des Bodensatzes der in vitro vergifteten Erythrozyten nehmen die Kerne der noch hämoglobinhaltigen Erythrozyten den Farbstoff nicht auf, während die Kerne der bereits hämoglobinfreien Erythrozyten ihn aufnehmen.

Inzwischen waren aus der Schule Pappenheims neue Arbeiten über die Heinzkörperchen erschienen. Hartwich hatte die Heinzkörperchen in Masse isoliert dargestellt und versucht festzustellen, 1. ob die Heinzkörperchen in irgendeiner Modifikation Eisen oder Hämoglobin enthielten, 2. welche chemische Reaktionen sie gaben, 3. ob für sie irgendein Lösungsmittel gefunden werden konnte. Zu 1. fand er positiven Ausfall der Peroxydase und Katalasereaktion. Ferner ist ihm bemerkenswert der anscheinend positive Ausfall der HCl-Ferrozyankaliumprobe, welch beide Reaktionen, obgleich die Rhodankaliumprobe negativ war, darauf hinweisen, daß sich in den Heinzkörpern ein eisenhaltiges Hämoglobinderivat finden müsse, das nach Madelung nicht aus reinem Hämin und auch nicht aus reinem Hämatoporphyrin bestehen kann, vielmehr müsse es sich um ein Eisenderivat bzw. einen Hämoglobinkörper handeln, der Eisen in einer zweiwertigen Form enthält. Zu 2. fand er die Xanthoprotein- und Millonsche Reaktion positiv. Biuret war dagegen kaum positiv zu nennen. Zu 3. fand er, daß sich die Heinzkörper ausgezeichnet in Essigsäure und Pepsinsalzsäure lösten. Bei den durch Pepsinsalzsäure gelösten Mengen trat positive Biuretreaktion auf, worin nach seiner Ansicht, vielleicht zugleich mit der schwach alkalischen Reaktion der Heinzkörper, ein Hinweis liegt, daß sie wohl weder aus reinem Metalbumin noch aus reinem Nuklein zusammengesetzt sind. Dieses und das Verhalten zur Essigsäure (Lösung) lasse auf eine gewisse Verwandtschaft zum Paranuklein bzw. Histon schließen. In der Chloroformessigsäurelösung und Essigsäureätherlösung sah er zarte kristallinische Nadeln und Schollen auftreten, die er für Fettsäurenadeln hält. Die typischen Cholesterinreaktionen blieben absolut negativ. Außerdem fand er auch eine starke Resistenz der Heinzkörperchen gegen starke Säuren. Die Untersuchungen von Hartwich wurden von Kunkel weiter verfolgt. Er hält für einen wesentlichen Bestandteil der Heinzkörper einen Eiweißkörper, den er als ein zum Syntonin denaturiertes Histon anspricht, da er zuerst von Kossel an Gänseblut studierte Reaktionen zeigt. Für seine Denaturierung zum Syntonin spreche die Unlöslichkeit in Wasser und verdünnter Kochsalz-

lösung, ferner seine Leichtlöslichkeit mit Opaleszenz in stark verdünnten Säuren und Alkalien in der Kälte. Die Reaktionen auf Purin- und Nukleinbasen waren negativ. Weiter glaubt Kunkel ein an den Eiweißkörper gebundenes Diamidophosphatid gefunden zu haben, das er durch Extraktion mit Alkohol erhalten hat. Durch die dieser Extraktion vorhergehende Ätherextraktion erhielt er im Gegensatz zu Hartwich geringe Mengen Cholesterin, das er mit der Salkowskischen Reaktion und mikroskopisch nachweisen konnte. Ein eisenhaltiges Blutfarbstoffderivat wurde auch von ihm gefunden.

Angeregt durch eine Arbeit von Masing, in der er nach einem von Plimmer und Scott angegebenen Verfahren Phosphorbestimmungen in normalem, aderlaßanämischem und phenylhydrazinanämischem Blut gemacht hat und wobei er eine Vermehrung des Lipoid- und Nukleinphosphors sowohl in den Blutkörperchen als auch im Serum anämischer Tiere gefunden hat, suchten wir auf dem gleichen Wege einen Beitrag zur Chemie der Heinzkörperchen zu liefern. Nach einigen mißglückten Versuchen, die hauptsächlich an zu geringer Menge von Heinzkörperchen scheiterten, kam ich zu folgendem Verfahren: 2 starke Kaninchen bekamen gleichzeitig 3 Tage hintereinander je 2 ccm einer 2proz. Lösung von salzsaurem Phenylhydrazin subkutan injiziert. Am Nachmittag des 3. Tages war der Hämoglobingehalt bereits auf 20—30 % nach Sahli gefallen. Die Tiere wurden nun entblutet, indem das Blut aus der Carotis entnommen wurde, während in die Jugularis der anderen Seite warme Ringerlösung injiziert wurde. Auf diese Weise bekommt man eine größere Menge der Blutkörperchen, als wenn man nicht mit Ringerlösung nachspült. Es ist mir verschiedentlich passiert, daß ein Kaninchen auf dem Operationstisch starb, noch ehe das Blut entnommen war. Ich führe das darauf zurück, daß das Phenylhydrazin nicht nur auf die Blutkörper, sondern auch auf das Nervensystem seine Giftwirkung ausübt. Ich empfehle deshalb, eine kleinere Dosis Phenylhydrazin zu nehmen und mit der Entblutung 24 Stunden nach der letzten Injektion zu warten.

Auf jeden Fall sind am 2. Tage die Heinzkörperchen schon prachtvoll entwickelt. Auch ist es besser, wenn die Vergiftung so rasch als möglich durchgeführt wird, da dann das Blutbild weniger durch neugebildete Blutzellen beeinträchtigt wird und eine geringere Anzahl der vergifteten Zellen aus der Blutbahn entfernt ist. Das Blut wird jetzt ähnlich wie bei Pappenheim, Hartwich, Kunkel durch Schütteln mit Glasperlen defibriniert. (In dem defibrinierten Blut wurde verschiedentlich das Verhältnis der Leukozyten zu den Erythrozyten bestimmt. Durchschnittlich kam 1 Leukozyt auf 576 Erythrozyten.) Nach

dem Defibrinieren wird das Serum abzentrifugiert und der Blutkörperchenbrei 1—2 mal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Danach spült man die Blutkörperchen mit destilliertem Wasser in einem Kolben von 1 Liter Inhalt, schüttelt kräftig durch, füllt den Kolben bis zu 1 Liter mit destilliertem Wasser auf, schüttelt nochmals kräftig und läßt über Nacht im Eisschrank stehen. Dadurch werden die Blutkörperchen schon vollkommen hämolysiert, und beim nächsten Zentrifugieren setzt sich eine lehmfarbene Schicht von Heinzkörperchen am Boden ab.[1]) Der Bodensatz wird noch einmal mit destilliertem Wasser in den Literkolben gespült, geschüttelt, aufgefüllt und nochmals geschüttelt. Man filtriert nun durch eine mehrfache Lage von Verbandsgaze, um die letzten Reste von Fibrin zu entfernen, zentrifugiert weiter und vereinigt den Bodensatz von je 2 Zentrifugengläsern so lange immer in einem Glas, bis sämtliche Heinzkörperchen in einem Glase sind. Dabei wird nur mit destilliertem Wasser gearbeitet. Der Blutkörperchenbrei wird dann in eine Petrischale gebracht und im Trockenschrank bei 50° getrocknet. Nach 36—48 Stunden ist er vollkommen trocken. Die so erhaltene Trockensubstanz betrug ungefähr $1^1/_2$—3 g. Von dieser Menge wurden 0,1 g abgewogen zur kolorimetrischen Cholesterinbestimmung nach Authenrieth, 0,2 g zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl, der Rest wurde nach Plimmer und Scott weiter behandelt. Für die Einzelheiten verweise ich auf die Originalarbeit. Das Eiweiß wird erst mit Alkohol gefällt. Darauf folgt vollständige Alkohol-Ätherextraktion des Niederschlages, dann Extraktion mit 1 proz. HCl und destilliertem Wasser zur Entfernung des säurelöslichen Phosphors. Der Rest wird mit 1 proz. NaOH bei 37° gelöst, wobei die Nukleoproteide unverändert bleiben, während der Phosphor der Phosphoproteide als anorganischer abgespalten wird.

Sämtliche Extrakte werden so verarbeitet, daß zuletzt nur ein Ätherextrakt, ein wässeriger Extrakt und eine NaOH-Lösung vorhanden sind. In dem Ätherextrakt ist der Lipoidphosphor, im wässerigen Extrakt Nukleinsäure- und anorganischer Phosphor, in der NaOH-Lösung Nukleoproteidphosphor und anorganischer, der von etwa vorhanden gewesenen Phosphoproteiden abgespalten worden ist. In den ersten Versuchen wurde der Gesamtphosphor bestimmt und folgende Mengen gefunden:

---

[1]) Das Zentrifugieren der hämolysierten Blutkörperchen bietet oft große Schwierigkeiten. Es läßt sich erleichtern, wenn man ungefähr $^1/_{10}$ der Menge physiologischer Kochsalzlösung zusetzt.

| | Trockensubstanz | mmg $P_2O_5$ | Prozentgehalt |
|---|---|---|---|
| III. | 1,8995 g | 15,597 | 0,8213 |
| IV. | 0,774 „ | 8,876 | 1,1468 |
| VII. | 0,6082 „ | 5,896 | 0,9694 |
| IX. | 3,111 „ | 18,7664 | 0,603 |
| XI. | 1,7336 „ | 18,132 | 1,046 |
| XII. | 1,4719 „ | 17,0644 | 1,1593 |
| XIII. | 2,2994 „ | 21,557 | 0,937 |

Im Durchschnitt ungefähr 1 %.

In den letzten Versuchen wurde eine Trennung vorgenommen und dabei folgendes gefunden.

| | Trocken-substanz | Äther-extrakt | HCl-Wasserextrakt | | | NaOH-Lösung | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Lipoid-phosphor | Gesamt $P_2O_5$ | Nuklein-säure | anorga-nisch | Gesamt $P_2O_5$ | Nukleo-proteid | Phospho-proteid |
| IX. | 3,111 g | 2,536 mg | 8,4956 mg | — | — | 7,7348 mg | — | — |
| XI. | 1,773 „ | 1,395 „ | 12,426 „ | — | — | 4,311 „ | — | — |
| XII. | 1,472 „ | 1,395 „ | 8,369 „ | — | — | 7,1 „ | — | Nieder-schlag |
| XIII. | 2,2994 „ | 0,507 „ | 13,44 „ | 5,79 mg | 7,65 mg | 7,61 „ | 7,61 mg | ø |
| XV. | 1,2287 „ | 4,51 „ | 5,072 „ | 2,98 „ | 2,09 „ | 6,4 „ | 6,4 „ | ø |

Diese Phosphorbestimmungen lassen, was die Trennung des Nukleinsäurephosphors vom anorganischen Phosphor, sowie des Nukleoproteidphosphors vom Phosphoproteidphosphor anbetrifft, viel zu wünschen übrig. Die Trennung des im HCl-Wasserextrakt befindlichen Phosphors geschieht dadurch, daß in der einen Hälfte des Extrakts der Gesamtphosphor bestimmt wird, in der anderen Hälfte nur der anorganische. Die Differenz zwischen beiden ergibt dann den Nukleinsäurephosphor. Auf gleiche Weise wird der Phosphor in der NaOH-Lösung getrennt. Die Fällung des anorganischen Phosphors mit Magnesiamixtur ist nun außerordentlich schwer, da gleichzeitig mit dem Niederschlag von phosphorsaurer Magnesia Eiweiß ausfällt, das sich umso unangenehmer bemerkbar macht, als es sich nur um geringe Mengen Phosphor handelt, so daß die Resultate selbst durch Spuren Eiweiß vollständig verdorben werden. So war bei Versuch XII in der NaOH-Lösung sicher ein Niederschlag von Magnesiumphosphat vorhanden, aber da er mit Eiweiß verunreinigt war, ließ sich die Menge nicht bestimmen. Dieser Niederschlag scheint mir jedoch ein Versuchsfehler zu sein, da ich im Versuch XIII und XV keinen Niederschlag an jener Stelle erhielt. Da ich außerdem

in der Literatur nirgends eine Angabe finden konnte, daß im Blut, speziell in den roten Blutkörperchen, Phosphoprotein vorhanden sei, und da Masing bei seinen Untersuchungen kein Phosphoprotein gefunden haben will, möchte ich annehmen, daß der bei Versuch XII in der NaOH-Lösung enthaltene anorganische Phosphor nicht von Phosphoprotein stammt, sondern in den HCl-Wasserextrakt gehört, von dem er schlecht extrahiert worden ist. Auf jeden Fall kann man sagen, daß der Phosphor der NaOH-Lösung zum weitaus größten Teil Nukleoproteidphosphor ist. Ungefähr die Hälfte des im HCl-Wasserextrakt enthaltenen Phosphors ist sicher Nukleinsäurephosphor. Da aber die Nukleinsäure ein Spaltungsprodukt der Nukleoproteide ist, sind gut 50 % des gesamten Phosphors Nukleinphosphor. Nach Abzug des Nukleinphosphors bleibt der Lipoidphosphor übrig und der anorganische. Der erstere ist vollkommen eindeutig. Aber der anorganische, wohin ist der zu rechnen? Ich glaube, daß ein großer Teil davon als Lipoidphosphor aufzufassen ist, da die Phosphatide sich schon in der Hitze unter Abspaltung von Phosphorsäure zersetzen können.

Cholesterinbestimmungen.

| | Trockensubstanz | mg-Cholesterin | Prozentgehalt |
|---|---|---|---|
| X. | 0,0741 g | 1,54 | 2,078 |
| X. | 0,3926 „ | 7,70 | 1,96 |
| XI. | 0,1042 „ | 1,96 | 1,885 |
| XII. | 0,0889 „ | 1,96 | 2,2047 |
| XIII. | 0,0955 „ | 2,14 | 2,241 |

Die gefundene Menge Cholesterin beträgt also durchschnittlich 2 %, die Menge Lezithin nach einem Phosphorgehalt von 4 % berechnet sehr viel weniger. Ein großer Teil des Lezithins wird nun allerdings durch die Extraktion mit heißem Alkohol und Äther zerstört und anorganischer Phosphor abgespalten. Aber selbst wenn ich den in Versuch XIII gefundenen anorganischen Phosphor ganz auf Lezithin umrechne, so erhalte ich nur etwa 5 % Lezithin. Cholesterin und Lezithin machen also im Höchstfall zusammen 7 % der Trockensubstanz aus. Pascucci hat nun gefunden, daß der Gehalt des Stromas an Lipoiden 33 % beträgt. Er fand diese Zahl, indem er das Stroma mit Alkohol und Äther extrahierte und die Substanz vor und nach der Extraktion wog. Die Differenz hielt er dann für Lipoide. Ich habe nun auch einige Male vor und nach der Alkohol-Ätherextraktion meine Substanz gewogen und habe Gewichtsverluste von 9,0, 12,0 und 3,5 % feststellen können.

Wie man sieht, sehr verschiedene Resultate. Den geringen Gewichtsverlust von 3,5 % fand ich in Fall XIII, bei dem auch die gefundene Menge Lezithinphosphor (0,5 mg $P_2O_5$) sehr gering ist gegenüber den Mengen von 1,39 mg $P_2O_5$ der Versuche XI und XII. Womit der geringe Gewichtsverlust im Falle XIII zu erklären ist, kann ich nicht sagen. Aber auch die beiden anderen Gewichtsverluste sind bedeutend geringer als die von Pascucci am Stroma normaler Erythrozyten gefundenen Werte. Es fragt sich nun, sind die Lipoide bei den anämischen Erythrozyten vermindert oder ist der Gehalt an Lipoiden derselbe geblieben und haben sich die anderen Bestandteile so vermehrt, daß die Lipoide nur noch 9—12 % betragen. Pascucci hält alles, was in den Alkohol-Ätherextrakt überging, für Lipoide. Diese Anschauung ist nach den heutigen Kenntnissen nicht mehr gerechtfertigt. Allerdings ist der Begriff der Lipoide auch heute kein fester und Oppenheimer faßt in seinem Lehrbuch unter Lipoiden alle die Stoffe zusammen, die sich aus Zellen durch Äther extrahieren lassen. Plimmer und Scott weisen darauf hin, daß es sehr wichtig ist, daß die verschiedenen Alkohol- und Ätherextrakte zur vollständigen Trockenheit abgedampft werden, ehe man die Lipoide mit Äther aus dem Verdampfungsrückstand extrahiert, da in den ersten Extrakten außer den Lipoidsubstanzen auch andere phosphorhaltige Stoffe enthalten seien, die in wasserhaltigem Alkohol und Äther löslich, in absolutem Alkohol und Äther aber unlöslich seien. Da Pascucci darauf keine Rücksicht genommen hat, dürfte sein Resultat etwas zu korrigieren sein.

Es liegt nun sehr nahe, den geringen Gewichtsverlust bei der Alkohol-Ätherextraktion auf Vermehrung der nicht lipoiden Bestandteile der Stromata zurückzuführen. Der Gehalt an Lipoiden kann dabei derselbe geblieben sein wie beim Stroma normaler Erythrozyten. Die durch Alkohol-Äther aus normalem Stroma extrahierbaren Stoffe betragen nach Pascucci 33 % des Gesamtgewichts, damit sie nur 9 bis 12 % betragen, und doch in gleicher Menge vorhanden sind, müßte das Gesamtgewicht um das Dreifache steigen. Diese Steigerung würde sehr gut zu den von Rosenthal gemachten Untersuchungen passen, wonach die Stromagewichtsvermehrung das zwei- bis dreifache Gewicht der normalen Stromata beträgt. Damit wäre aber auch gesagt, daß die durch Alkohol-Äther extrahierbaren Stoffe bei normalem und phenylhydrazinanämischem Stroma in gleicher Menge vorhanden sind, d. h. sich nicht vermehrt haben.

Weiter läßt sich noch aus dem Stickstoffgehalt ein Rückschluß auf die Zusammensetzung des Stromas machen.

Stickstoffbestimmungen.

| | Trocken-substanz | mg-Stickstoff | Prozentgehalt |
|---|---|---|---|
| XI | 0,1908 g | 24,29 | 12,73 |
| XII | 0,2333 g | 29,06 | 12,447 |
| XIII | 0,2324 g | 32,994 | 14,197 |

Wie man sieht, ist der Stickstoffgehalt durchweg niedriger als er sein würde, wenn das Stroma nur aus Eiweißkörpern bestände. Eiweiß hat im Durchschnitt einen Gehalt von 16 % Stickstoff, also 2 bis 3 % mehr als im Stroma vorhanden ist. Nun besteht aber das Stroma nicht nur aus Eiweißkörpern, sondern auch aus Lipoiden, die gar keinen oder so wenig Stickstoff enthalten, daß man ihn gar nicht in Rechnung zu ziehen braucht. Nehme ich den Gehalt des Stromaeiweißes an Stickstoff zu 16 % an, so berechne ich aus meinen Stickstoffbestimmungen den Anteil der stickstofffreien und stickstoffarmen Bestandteile am Stroma zu 20,4, 22,2 und 11,3 %. Danach wären also die Lipoide vermehrt gegenüber dem Stroma normaler Erythrozyten. Auf diese Berechnung ist jedoch nicht allzuviel Wert zu legen, da die Bestimmungen Pascuccis an Pferdeblutkörperchen vorgenommen wurden. Wie aber Abderhalden gezeigt hat, bestehen in der chemischen Zusammensetzung verschiedener Blutarten ziemliche Unterschiede. Auf eine Vermehrung der Lipoide wäre weiter daraus zu schließen, daß Pascucci einen konstanten Stickstoffgehalt von 12,3 % gefunden hat. Da ich einen ganz ähnlichen Stickstoffgehalt gefunden habe, müssen die stickstofffreien und die stickstoffhaltigen Stoffe in dem phenylhydrazinanämischen Stroma sich in demselben Verhältnis vermehrt haben, in dem sie im normalen Stroma enthalten sind, damit der Stickstoffgehalt sich prozentual gleich bleibt. Auch dagegen ist der oben erhobene Einwand zu machen. Überhaupt sind die Resultate von Pascucci für einen Vergleich mit den meinigen mit Vorsicht zu gebrauchen, da sie einmal an Pferdeblut erhalten wurden und da offenbar der Gehalt an Lipoiden nicht zu dem Gehalt an Stickstoff stimmt. Denn entweder ist der Stickstoffgehalt richtig gefunden und der Gehalt an Lipoiden zu groß oder umgekehrt.

Zur Erklärung der Differenz zwischen der Menge der durch Alkohol-Äther extrahierbaren Stoffe und der Menge der quantitativ bestimmbaren Lipoide muß man sagen, daß einmal nicht alle in den Alkohol-Ätherextrakt übergegangenen Stoffe Lipoide sind, daß weiter

von den wirklich ätherlöslichen Substanzen ein Teil Fettsäuren sind, die vom Lezithin abgespalten wurden, und ein anderer Teil aus Lipoiden besteht, die keinen Phosphor enthalten. Zu diesen letzteren gehört das Cholesterin, doch reichen die gefundenen Mengen Cholesterin nicht aus, um die Differenz zu erklären. Andere phosphorfreie Lipoide sind aber bisher im Blute nicht nachgewiesen worden.

Im Nilblauvitalpräparat der hämolysierten phenylhydrazinanämischen Erythrozyten sieht man die blaugrüngefärbten Heinzkörperchen zu einem oder mehreren an den Erythrozytenschatten hängen. Das Sediment besteht also nicht nur aus den Heinzkörperchen, sondern auch aus dem Stroma. Es fragt sich nun: Ist der Nukleoproteidphosphorgehalt auf das Stroma oder auf die Heinzkörperchen zu beziehen. Zur Erörterung dieser Frage diene folgende Tabelle:

| Fall | Trocken-substanz | Leukozyten / Erythrozyten | Stickstoff | Prozent-gehalt an $P_2O_5$ | Absolute Mengen $P_2O_5$ | Cholesterin |
|---|---|---|---|---|---|---|
| IX | 3,1111 g | 1 : 408 | — | 0,603 % | 18,76 mg | |
| XIII | 2,6273 „ | 1 : 519 | 14,197 % | 0,937 % | 24,62 „ | 2,241 % |
| XI | 2,0286 „ | — | 12,73 % | 1,046 % | 21,22 „ | 1,885 % |
| XII | 1,7941 „ | 1 : 658 | 12,44 % | 1,159 % | 20,79 „ | 2,204 % |
| XV | 1,2287 „ | — | — | 1,3 % | 15,98 „ | |
| XIV | 1,0265 „ | — | 9,81 % | 2,01 % | 20,63 „ | 6,5 % |

In den ersten vier Fällen wurde bei Herstelluug der Trockensubstanz wie oben angegeben verfahren. In Fall XIV bekamen die Tiere eine einmalige Dosis von 0,08 g Phenylhydrazin und wurden bereits nach 24 Stunden entblutet. In der ersten Spalte sieht man, wie die Menge der Trockensubstanz zunimmt. Nach dem mikroskopischen Bild zu schließen, scheint mir diese Zunahme auf der Heinzkörperchenbildung zu beruhen und nicht auf einer Vermehrung des Stromas, denn am Vitalpräparat sieht man je nach dem Grade der Vergiftung kleinere oder größere Heinzkörper, während die Erythrozytenschatten sich gegen die Norm nicht verändert zu haben scheinen. Gleichzeitig mit der Vermehrung der Trockensubstanz scheint, wie sich aus der zweiten Spalte ergibt, eine zunehmende Leukozytose vorhanden zu sein. Aus den beiden nächsten Spalten ergibt sich, daß der Stickstoffgehalt mit der Zunahme der Trockensubstanz steigt, während der Gehalt an Phosphorsäure sinkt. Das spricht unzweifelhaft dafür, daß die Heinzkörperchen zum größten Teil aus Eiweiß gebildet werden, das keinen Phosphor enthält und daß der Nukleinsäurephosphor fast ganz auf das Stroma zu beziehen ist.

Denn bei der stärksten Sedimentvermehrung ist der Phosphorgehalt am niedrigsten, und im Falle XIV, wo die Heinzkörperbildung infolge der kürzeren Einwirkungsdauer des Phenylhydrazins noch nicht sehr ausgesprochen war, ist der Phosphorgehalt außerordentlich groß. Aus der nächsten Spalte über die absoluten Phosphormengen ergibt sich, daß der Phosphorgehalt in allen Fällen ziemlich gleichbleibt. Danach würde also keine Vermehrung an Phosphorsäure eintreten. Es wäre jedoch immerhin möglich, daß im Beginn der Phenylhydrazinwirkung eine Vermehrung des Phosphors gegenüber der Norm besteht. Das kann ich jedoch nicht feststellen, da ich meinen Fällen keinen normalen Fall gegenüberstellen kann. Der Fall XIV ist allerdings der Norm stark genähert, aber normal ist er eben doch nicht. Nach meinen Befunden würde der Prozentgehalt an Phosphor mit zunehmender Sedimentvermehrung abnehmen. Die absolute Menge allerdings steigt etwas — in Fall XV ging ein Teil der Erythrozyten durch vorzeitige Gerinnung verloren — wenigstens in den letzten Fällen. Aber diese geringe Steigerung kann auch durch die größere Anzahl von Leukozyten bedingt sein. Oder sollte die stärkere Bildung von Jugendformen daran schuld sein? Daß die Menge der Leukozyten nicht sehr viel ausmacht, kann man an Fall IX ersehen, wo neben der größten Anzahl von Leukozyten der geringste Phosphorgehalt gefunden worden ist. Es kam in diesem Fall ein Leukozyt auf schon 408 Erythrozyten. Daß in diesem Fall die absolute Phosphormenge stark abgenommen hat, kann man dadurch erklären, daß die Heinzkörperbildung so hochgradig war, daß eine größere Anzahl von Erythrozyten aus der Blutbahn entfernt wurden. Infolgedessen war zwar die Zahl der Erythrozyten vermindert, die Heinzkörperbildung aber doch so stark, daß es zu einer mächtigen Sedimentvermehrung kam. Das würde auch zusammen mit der oben gemachten Annahme, daß das Stroma aus phosphorhaltigem, die Heinzkörper aus phosphorfreiem Eiweiß bestehen, den außerordentlich niedrigen Gehalt an Phosphor 0,6 % der Trockensubstanz, erklären.

Was die Menge der Nukleoproteide betrifft, die im Sediment enthalten sind, so ist dieselbe nicht allzu groß. Hammarsten gibt an, daß die Nukleoproteide 0,5 bis 1,6 % Phosphor enthalten. Nimmt man einen mittleren Gehalt von 1 % Phosphor an, so erhält man Mengen, die ungefähr 20 bis 25 % der Trockensubstanz betragen. Die Sedimentvermehrung ist also nur bedingt durch eine Vermehrung von nichtphosphorhaltigen Eiweißkörpern. Welcher Natur diese Eiweißkörper sind, habe ich nicht festgestellt. Nach Untersuchungen, die unter Pappenheims Leitung gemacht worden sind (Suzuki, Hartwich und Kunkel), sollen im Stroma keine Purinbasen vorhanden sein. Hart-

wich charakterisiert das Eiweiß als verwandt zum Paranuklein, bzw. Histon, während Kunkel es für ein zum Synthonin denaturiertes Histon hält und ausdrücklich betont, daß er keine Purinbasen hat feststellen können. Nun ist aber Histon ein Eiweißkörper von stark basischem Charakter, der ausschließlich in Blutkörperchen, Leukozyten und Spermatozoen vorkommt und zwar in salzartiger Bindung mit dem sauren Nuklein. Histon entsteht also bei der Spaltung von Nukleoproteiden und es wäre doch merkwürdig, wenn das Stroma fast ausschließlich aus Histon bestehen sollte und von dem anderen Spaltungsprodukt, den Nukleinsäuren, gar nichts zu finden wäre. Die Charakterisierung Hartwichs „Paranuklein bzw. Histon" ist auch schwer verständlich, denn Paranuklein ist der Anteil der Phosphoproteide, der Phosphor enthält, Histon aber der Anteil der Nukleoproteide, der phosphorfrei ist. Die Phosphoproteide und die Nukleoproteide sind jedoch vollständig verschieden voneinander.

Fragen wir noch nach der Entstehung der Heinzkörper, so liegt es nahe, anzunehmen, daß das Eiweiß, aus dem die Körper gebildet werden, aus den Erythrozyten selbst stammt, und zwar käme da nur das Hämoglobin in Frage. Dafür sprächen auch die Befunde von Hartwich und Kunkel, die eine Eisenreaktion festgestellt haben. Man wird zu dieser Annahme auch dadurch geführt, daß am Hämoglobin eine Veränderung vor sich zu gehen scheint, die bisher noch unaufgeklärt geblieben ist. Denn bei der Phenylhydrazinvergiftung handelt es sich nicht um eine Methämoglobinbildung. Genaueres darüber würde sich aber doch erst sagen lassen, wenn quantitative Eisenbestimmungen vorgenommen werden. Daß das Phenylhydrazin oder seine Spaltungsprodukte an den Erythrozyten selbst angreifen, scheint mir sehr wahrscheinlich, denn im fixierten Präparat sind die oxyphilen Zellen im Sinne einer Poikilozytose hochgradig verändert, während die polychromatischen und basophil punktierten Zellen verhältnismäßig unverändert sind. Es sind also, wie schon Pappenheim hervorhob, die alten Zellen, die am stärksten beeinflußt werden. Durch die Ausfällung einzelner Eiweißkörper als Heinzkörperchen wird das Hämoglobin natürlich hochgradig verändert und auf dieser hochgradigen Veränderung wird schließlich die Zerstörung der roten Blutkörperchen im Kreislauf beruhen. Das Phenylhydrazin wäre demnach ein Blutgift, das seinen spezifischen Angriffspunkt am Hämoglobin hätte.

## Zusammenfassung.

Da sich die absoluten Mengen $P_2O_5$ in der Gesamtmenge des Blutes ziemlich gleichbleiben, gehört die Nukleinsäure wahrscheinlich den normalen Bestandteilen des Erythrozytenstromas an.

Das prozentuale Abfallen des Gehaltes an $P_2O_5$ bei zunehmender Steigerung des Gehaltes an Stickstoff und zunehmender Sedimentvermehrung spricht dafür, daß die Heinzkörperbildung fast ausschließlich aus Eiweißstoffen erfolgt, die keinen Phosphor enthalten und daß der gefundene Nukleinphosphor daher auf das Stroma zu beziehen ist.

Der Gehalt des Sediments an Phosphorsäure $P_2O_5$ schwankt zwischen 0,6 und 2 % der Trockensubstanz. Davon dürften über 50 % Nukleinphosphor sein, etwa 5—20 % sind Lipoidphosphor, der Rest ist anorganischer Phosphor.

Der Gehalt an Cholesterin beträgt 2—6,5 % der Trockensubstanz.

Der Stickstoffgehalt beträgt 9,8—14,2 % der Trockensubstanz.

Ein Phosphoproteid (Nukleoalbumin) scheint nicht vorhanden zu sein.

---

## Literatur.


1. Morawitz und Pratt, Einige Beobachtungen bei experimentellen Anämien. Münch. med. Wochenschr. 1908, Nr. 35.
2. Itami und Pratt, Über Veränderungen der Resistenz und der Stromata roter Blutkörperchen bei experimentellen Anämien. Biochem. Zeitschr. 1909, Nr. 18.
3. J. Sattler, Über experimentell erzeugte allgemeine Resistenzerhöhung der roten Blutkörperchen. Fol. Haem., Bd. IX, Archiv, S. 216.
4. H. Hirschfeld, Über einige Veränderungen der roten Blutkörperchen bei experimentellen Anämien. Fol. Haem., Bd. IX, S. 534.
5. F. Rosenthal, Die sogen. Pachydermie der Erythrozyten bei Phenylhydrazinanämie. Fol. Haem., Bd. X, Archiv, S. 253.
6. D. Friedstein, Experimentelle Beiträge zur Kenntnis der perniziösen Anämie und zur Pathologie der roten Blutkörperchen. Fol. Haem. 1911, Bd. XII, Archiv.
7. A. Pappenheim und T. Suzuki, Weitere Mitteilungen zur Kenntnis der Heinzschen Vergiftungskörperchen. Fol. Haem. 1912, Bd. XIII, Archiv, S. 205.
8. T. Suzuki, Weitere Beiträge zur Kenntnis der Erythrozytenveränderungen bei Pyrodinvergiftung. Fol. Haem. 1912, Bd. XIII, Archiv, S. 225.
9. Werner Hartwich, Weitere Beiträge zur Kenntnis der Heinzschen Vergiftungskörper. Fol. Haem. 1912, Bd. XIII, Archiv, S. 257.
10. H. Kunkel, Chemische Beiträge zur Kenntnis der Substanz der hämoglobinämischen Innenkörper. Fol. Haem. 1913, Bd. XIV, Archiv, S. 430.
11. P. Ribierre, De la résistance des globules rouges et de ses variations. Folia Haem. 1905, Bd. II, S. 153.

12. L. Wooldridge, Zur Chemie der Blutkörperchen. Arch. f. Anat. u. Physiol. 1881, S. 389.
13. O. Pascucci, Zusammensetzung des Blutscheibenstromas und die Hämolyse. Hofmeisters Beiträge 1905, Bd. VI, S. 543.
14. Piettre und Vila, Le stroma des globules rouges. Compt. rend. 1906, t. CXLIII, pg. 787.
15. R. Heinz, Handb. der experim. Pathologie u. Pharmakologie 1904, Bd. I.
16. — Zur allgemeinen Pathologie der roten und weißen Blutkörperchen. Med. Naturwissenschaftl. Archiv 1908, Bd. I.
17. Masing, Chemische Beiträge zur Blutregeneration. Arch. f. experim. Pathologie und Pharmakologie 1911, Bd. LXVI.
18. Plimmer and Scott, A reaction distinguishing phosphoprotein from nucleoprotein and the distribution of phosphoproteins in tissues. Journ. of the Chemical Society, Transactions 1908, vol. XCIII, II, S. 1699.
19. Naegeli, Blutdiagnostik und Blutkrankheiten 1912.
20. C. Oppenheimer, Grundriß der Biochemie 1912.

# LEBENSLAUF.

Geboren am 29. März 1878 zu Mainz im Großherzogtum Hessen, besuchte ich das städtische Gymnasium in Frankfurt a. M. und das Ludwig-Georgs-Gymnasium in Darmstadt. An letzterem bestand ich im Herbst 1897 die Reifeprüfung. Ostern 1908 begann ich das medizinische Studium in Heidelberg, wo ich auch Ende des Sommersemesters 1910 das medizinische Vorexamen bestand. Danach studierte ich je ein Semester in Freiburg, Marburg und München. Die beiden letzten Semester war ich wieder in Freiburg, wo ich im Frühjahr 1913 das medizinische Staatsexamen bestand. Zur Zeit bin ich Medizinalpraktikant an der medizinischen Poliklinik in Freiburg, wo ich unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Morawitz vorliegende Arbeit machte.